

## **Efeito da Idade e da Fertilização na Qualidade das Plantas do Sobreiro (*Quercus suber* L.) em Viveiro**

**Hachemi Merouani, Filipe Costa e Silva, Teresa Sampaio, Maria João Lourenço, Carla Faria, João Santos Pereira, Maria Helena Almeida.**

<sup>1</sup> Instituto Superior de Agronomia, Centro de Estudos Florestais, Tapada da Ajuda 1349-017 LISBOA

**Resumo:** A plantação tem sido uma técnica muito utilizada em projectos de reflorestação do montado de sobro, uma vez que a sementeira é limitada temporalmente pelo facto de não se dominar a conservação a longo prazo das glandes (sementes recalcitrantes). Consequentemente, a produção das plantas provém exclusivamente de sementes frescas (Novembro - Janeiro) condicionando a sua idade no momento da plantação (10-14 meses). A idade da planta influencia o seu potencial de crescimento após a plantação, estando regulamentada por legislação (*Decreto-Lei nº 205/2000, de 12 de Setembro*). A aplicação de fertilizantes tem sido sugerida como uma técnica de produção em viveiro destinada a melhorar a qualidade da planta. No âmbito de diversos projectos (*CREOAK-QLK5-CT-2002-01594; POCTI/41359/AGG/2001*), temos vindo a aprofundar o conhecimento sobre a qualidade das plantas do sobreiro.

Produziram-se em viveiro, plantas de idade diferente provenientes de sementes frescas e conservadas (3 e 6 meses), obtendo-se respectivamente plantas de 9, 7 e 5 meses. Nas plantas de 7 meses, foi aplicado um tratamento de fertilização (50 ml da solução NPK, 12-2-12) e de micorrização (*Pisolithus tinctorius*).

Foram avaliados diferentes parâmetros morfológicos e fisiológicos durante a fase de crescimento da planta em viveiro, assim como o potencial de crescimento das raízes no momento de plantação. Os resultados apresentados centram-se no efeito de ambos os factores (idade à plantação e fertilização) na qualidade das plantas.

**Palavras-chaves:** *Qualidade, Material Florestal de Reprodução, Conservação de glandes, idade da planta, Q. suber*

### **Introdução**

O montado de sobro é considerado um património florestal Mediterrâneo dado o papel que desempenha em termos ambientais e sócio-económicos. Em Portugal, estes ecossistemas florestais têm vindo a ser reabilitados, contrariando a tendência para a regressão e aumentando a sua área. O insucesso da sementeira, avaliado através da elevada mortalidade e dos danos causados por animais, tem sido um dos factores a promover o recurso à plantação como técnica de reflorestação (CARVALHO e MORAIS, 1996; LOURO, 1999), mas também pelo facto de ser limitada temporalmente devido a não se dominar a conservação das glandes (sementes recalcitrantes). Em França, a produção de plantas de sobreiro usando sementes conservadas representou apenas 10 a 15% do total produzido em viveiro entre 1974 e 1989 (BASTIEN, 1992). O autor explica esta redução pela indisponibilidade das glandes ao longo do ano e pelo seu elevado preço devido à sua alta qualidade. Em Portugal, a qualidade das sementes conservadas tem vindo a ser reconhecida (TEIXEIRA, 2003). Entre 1997 e 2002 o CENACEF processou cerca de 38 toneladas de glande, das quais resultaram 30 toneladas de glandes limpas, representando apenas 8% das necessidades do mercado (SILVA e RIBEIRO, 2003). Esta mesma instituição certificou 155 toneladas de glande a partir de 2001.

As plantações com espécies de crescimento lento (ex. *Quercus*) têm, geralmente, um maior insucesso do que as de crescimento rápido (e.g. *Pinus*, *Eucalyptus*) (BRONCANO, *et al.* 1998). Este facto pode ser atribuído a diversos factores: i)- técnica de produção e manipulação de plantas no viveiro, ii)- técnica de instalação e iii)- condições biológicas (predadores) e ambientais do local da instalação (FUCHS, 2000; PARDOS e MONTERO, 2000; KIRIINYA, 2001). Através de alguns cuidados culturais antes da plantação (e.g. tratamentos fitossanitários) e após a plantação (e.g. rega) (REY-BENAYAS, 1998) é possível melhorar significativamente a sobrevivência. No entanto, a qualidade do Material Florestal de Reprodução (MFR) à plantação é considerado o ponto de partida do sucesso das instalações de campo (TINUS, 1996; McKAY *et al.*, 1999; O'REILLY *et al.*, 1999; VILLAR-SALVADOR *et al.*, 2004).

Ao longo do tempo a qualidade das plantas foi investigada de forma a encontrar parâmetros que permitissem prever o crescimento das plantas e a sua sobrevivência no campo. RITCHIE (1984) distingue duas categorias de parâmetros: 1. Parâmetros morfológicos, hídricos, nutricionais da planta e 2. Parâmetros fisiológicos que avaliam a taxa de crescimento e a tolerância aos diversos stress ambientais. Alguns destes parâmetros (e.g. *razão parte aérea/parte radicular* - *S/R*, potencial de crescimento das raízes - *RGP*, reservas) mostraram estar bem correlacionados com o sucesso da plantação (TINUS, 1996; VILLAR-SALVADOR *et al.*, 2004). Recentemente, os mais importantes parâmetros de qualidade da planta abrangem o conceito da taxa de crescimento relativo (TCR) (HUNT *et al.*, 2002; VILLAR *et al.*, 2004).

Algumas práticas culturais de viveiro, como a fertilização e a micorrização, têm vindo a ser aplicadas nas últimas décadas para melhorar a qualidade da planta e aumentar o seu potencial de sucesso no campo. A fertilização pode levar a uma significativa melhoria da taxa de crescimento em plantas de diversas espécies (FAN *et al.*, 2004; VILLAR-SALVADOR *et al.*, 2004) e tem sido aplicada recentemente no género *Quercus* (WELANDER e OTTOSSON, 2000; VILLAR-SALVADOR *et al.*, 2004). Contudo, uma fertilização em excesso pode prejudicar o sucesso da plantação, induzindo a redução do crescimento radicular e da tolerância à secura (TAN and HOGAN, 1995) e o aumento da área foliar, do tamanho do caule e do *S/R* (PARDOS e MONTERO, 2000). Ao contrário, VILLAR-SALVADOR *et al.* (2004) mostrou que uma forte fertilização (145mg N, 16mg P e 34mg K/planta) em plantas de azinheira (*Q. ilex* L.) em viveiro pode melhorar o crescimento e a sobrevivência durante os dois primeiros anos após a instalação.

Os estudos de micorrização centram-se na selecção das espécies de fungos, no seu isolamento e na sua forma de aplicação em viveiro ou no campo (GONZÁLEZ-OCHOA *et al.*, 2003). A micorrização, utilizada especialmente no género *Pinus* e *Eucalyptus*, mostrou exercer influência na absorção dos nutrientes e nas relações hídricas da planta (COLPAERT *et al.*, 1996). Em *Quercus ilex* inoculadas por *Tuber melanosporum*, NARDINI *et al.* (2000) demonstraram que a assimilação líquida e a condutância hidráulica são significativamente favorecidas.

Para além dos tratamentos culturais e da manipulação das plantas durante a fase de produção, também a idade das plantas nas condições do viveiro pode constituir um factor determinante da qualidade das plantas, condicionando o seu futuro crescimento. Em 5 espécies (4 de *Eucalyptus* e 1 de *Acacia*), KIRIINYA (2001) verificou que o tempo de 5-6 meses de permanência no viveiro exerce um efeito positivo na TCR e na sobrevivência da planta durante os seus estados juvenis. Tais estudos são difíceis com as espécies recalcitrantes, devido à dificuldade de conservação das glandes. Consequentemente, a produção de plantas de muitas espécies do género *Quercus* em geral e de sobreiro em particular, provém exclusivamente de glandes frescas (Novembro – Janeiro) condicionando a sua idade no momento da plantação a 9-14 meses. Até ao presente não houve ainda um estudo aprofundado sobre o efeito da idade no crescimento e na sobrevivência do sobreiro, apesar de esta estar regulamentada por legislação (*Portaria n.º 918/98, de 21 de*

*Outubro*). Em trabalhos anteriores integrados em diferentes Projectos (*FAIR5CT97 3480*; *CREOAK-QLK5-CT-2002-01594*; *POCTI/41359/AGG/2001*), verificou-se que a conservação melhora a qualidade dos MFR (glandes e plântulas). De facto, em condições controladas, as plantas produzidas de sementes conservadas mostram uma significativa melhoria da emergência, uniformidade e do crescimento relativamente às plantas produzidas de sementes frescas (MEROUANI *et al.*, 2001a', b), o que significa uma positiva alteração fisiológica nas sementes conservadas. No processo de 24 meses de conservação é possível distinguir 6 principais níveis a que correspondem estados morfológicos, fisiológicos (MEROUANI *et al.*, 2001a, b, 2004) e bioquímicos diferentes (não publicados).

O objectivo principal deste estudo é analisar o efeito da idade na qualidade de plantas de sobreiro, produzidas em viveiro a partir de glandes com diferentes tempos de conservação, através da medição da TCR à plantação e usando um tratamento fertilizado e micorrizado como referência de melhor crescimento. Especificamente, iremos comparar os parâmetros morfológicos, fisiológicos e bioquímicos que melhor avaliam a qualidade da planta no momento de plantação. Futuramente, estes parâmetros serão correlacionados com a sobrevivência e crescimento das plantas instaladas no campo (*Plantação em Novembro – Dezembro 2004, Concelho de Coruche*).

## **Material e métodos**

### *Recolha e conservação das sementes*

Um lote (400 kg) de glandes recentemente caídas (num intervalo de 5-7 dias) foi recolhido na Herdade da Palma (Alcácer do Sal) e conservado em frio húmido. A técnica de manipulação e de conservação das glandes encontra-se descrita em Merouani *et al.* (2001c).

### *Avaliação da qualidade das sementes*

Neste estudo, consideraram-se 3 lotes de glande em níveis fisiológicos diferentes: glandes frescas (F); glandes com 3 meses de conservação (3MC) e glandes com 6 meses de conservação (6MC). A qualidade morfológica (aspecto externo, humidade) e fisiológica (Capacidade germinativa (%G), ISTA 2003; Tempo médio de germinação (TMG) e uniformidade ( $T_{75-25}$ ) foi analisada para cada nível. O TMG e a  $T_{75-25}$  foram determinados pelo Software *SeedCalculator* (CPRO, Holanda) de acordo com o descrito em MEROUANI *et al.*, 2001a. A concentração de amido foi determinada nos cotilédones e no embrião usando o método da antrona (HALHOUL e KLEINBERG, 1972).

### *Pré-germinação e produção de plantas*

No viveiro florestal do ISA foram produzidos: 760 sobreiros provenientes de sementes frescas (F) semeados a 19 de Dezembro de 2003; 2000 sobreiros provenientes de sementes conservadas 3 meses (P-3MC) semeados a 19 de Fevereiro de 2004; 760 sobreiros provenientes de sementes conservadas 6 meses (P-6MC) semeados a 17 de Maio de 2004. O efeito da idade da planta foi avaliado nos 3 lotes de plantas e foi também avaliado o efeito da fertilização e micorrização nos sobreiros pertencentes ao lote P-3MC. As técnicas da inoculação e de fertilização recomendadas pelo laboratório do INRA, condicionaram a idade das plantas o que obrigou à utilização do nível 3MC da semente.

Para confirmar a viabilidade das glandes, foi efectuada uma pré-germinação. Assim, quando o pericarpo rompeu ou a radícula emergiu (1-10 mm) as glandes foram escolhidas individualmente e colocadas cuidadosamente nos contentores de 300 cm<sup>3</sup> (Ref. 40 Pinextra 3155, CETAP, Portugal). O substrato utilizado foi uma mistura de turfa com granulado de cortiça (2-8mm de diâmetro), numa proporção de 7:3, com pH entre 5.7 e 6.3. Os contentores foram colocados numa área coberta com uma rede de ensombramento (48 ±0.05% (Radiometer, LI-170), situada a 2 metros de altura acima dos contentores. Devido à perda de sementes por predadores (gaio, melro), os contentores foram ainda cobertos por uma rede de malha fina, até que a maioria das plantas atingisse uma altura entre os 4 e 6 cm.

#### *Práticas de viveiro (Micorrização e Fertilização das plantas)*

Após 3 meses de crescimento, em Junho de 2004, 800 plantas (P-3MC) foram inoculadas com 60 ml de um inóculo sólido de *Pisolithus tinctorius* (P) (constituído por turfa, vermiculite e granulado de cortiça, numa proporção de 2:4:3). Manualmente adicionou-se o volume referido ao substrato de origem de cada planta. O micélio utilizado, neste estudo, foi colhido em Dria (Maamora, Marrocos) num povoamento de sobreiro de 6 anos de idade e isolado em Novembro – Dezembro de 2001. Nas restantes plantas foi adicionada a mistura já referenciada, sem inóculo do fungo.

Seis semanas após a inoculação, procedeu-se à fertilização das plantas inoculadas e não inoculadas (P-3MC) identificadas por (P7M-3MC\_FP) e (P7M-3MC\_F), respectivamente. Foi considerado como controle (C), um lote de plantas, não inoculadas e sem fertilização. A solução de fertilização (NPK, 12-2-12) diluída a 0.25% foi aplicada semanalmente, durante 6 semanas, automaticamente (50 ±7.4 ml por planta).

#### *Parâmetros de qualidade da planta*

A partir da data de sementeira foi registada semanalmente, a emergência das plantas e posteriormente foi determinada a emergência máxima (E) e o tempo de emergência (TE) das plantas de todos os lotes (P-F, P-3MC, e P-6MC). A idade "0" de cada um destes lotes foi definida pelo momento em que se verificou 50% de emergência. A idade dos sobreiros à plantação foi de 9, 7 e 5 meses, consoante pertenciam a plantas provenientes de sementes frescas, conservadas 3 ou 6 meses e foram identificadas por P9M-F, P7M-3MC e P5M-6MC, respectivamente.

A qualidade das plantas foi caracterizada em todos os tratamentos no momento da plantação (Novembro de 2004). A altura e o diâmetro do colo foram medidos em todos os tratamentos P9M-F, (N= 669), P5M-6MC, (N= 694) e P7M-3MC\_C, \_F e \_FP (N= 80 cada um). Para os tratamentos P9M-F e P5M-6MC, a altura foi também medida ao 1º mês de idade.

A uniformidade da altura das plantas foi estimada pela repartição em 3 classes: < a 13, [13-24] e > 24 cm. O limite superior (24 cm), correspondeu à média das alturas de todas as plantas dos diferentes tratamentos (N = 1613 plantas) e o limite inferior, 13 cm, ao limite mínimo admitido para comercialização (*Decreto-Lei nº 205/2000, de 12 de Setembro*).

No momento de saída das plantas do viveiro para a plantação, amostraram-se 45 plantas por tratamento, dentro de 5 classes de altura ( $M-2*Stdev$ ,  $M-1*Stdev$ , Media,  $M+1*Stdev$ ,  $M+2*Stdev$ ). Cada um destes conjuntos foi separado em 3 grupos equitativos de 15 plantas, mantendo-se a representatividade do tratamento, nos quais foram avaliados as reservas (amido e

açúcares totais do pivot e eixo), o potencial de crescimento das raízes (RGP) e a partição da biomassa.

A taxa de crescimento relativo (TCR) definido pelo incremento da biomassa por unidade de biomassa e tempo foi avaliada com base no modelo:  $TCR = (\ln P_2 - \ln P_1) / (t_2 - t_1)$  (HUNT *et al.*, 2002; VILLAR *et al.*, 2004). A TCR referente ao período de produção em viveiro foi avaliada entre o 1º mês de idade e a plantação nos tratamentos P9M-F e P5M-6MC e num período de 23 dias para todos os tratamentos em condições controladas (20°C, 12h/12h, dia/noite). Foi calculada a razão entre a biomassa das raízes novas secundárias e a biomassa total da planta, e ainda relativamente às suas componentes. A análise das raízes e a área foliar foram determinados com o Software WinRHIZO 2003b.

### *Tratamento dos dados*

O delineamento experimental utilizado considerou dois factores em estudo: idade da planta e práticas culturais aplicadas em plantas provenientes de sementes conservadas 3 meses. O efeito destes factores nas variáveis das plantas foi avaliado separadamente através da análise da variância (ANOVA) a um factor. O teste de Tukey, permitiu a comparação entre as médias dos tratamentos para  $\alpha=5\%$ . Sempre que os pressupostos de distribuição normal e de homogeneidade da variância para a variável em causa não foram satisfeitos, mesmo após transformação dos dados, utilizou-se o teste Kruskal-Wallis. Aplicou-se um *teste de t* para comparar os parâmetros de qualidade das plantas provenientes de sementes conservadas durante 6 meses (P5M-6MC) e as produzidas de sementes conservadas durante 3 meses mas fertilizadas (P7M-3MC\_F).

## **Resultados**

### *Qualidade das glandes*

A tabela 1 mostra os parâmetros de qualidade dos diferentes níveis de glandes (F, 3MC e 6MC) utilizados na produção dos lotes de plantas. O tempo médio de germinação (TMG), a uniformidade ( $T_{75-25}$ ) e a concentração de amido nos cotilédones foram aqueles parâmetros que apresentaram uma alteração significativa durante a conservação. O TMG passou de 14.9 dias nas glandes do nível F para 5.4 e 3.8 dias nas conservadas (níveis 3MC e 6MC, respectivamente). A germinação das glandes conservadas foi mais uniforme do que a das frescas. A concentração de amido cotilédonar [AmC] aumentou significativamente cerca de 12% do nível F (648 mg g<sup>-1</sup>) para o 3MC (738.3 mg g<sup>-1</sup>), tendo-se reduzido esta concentração no tratamento 6MC para um valor próximo ao do F (Tabela 1).

Embora não tenha havido diferenças significativas na concentração de amido do embrião [AmE], observou-se uma diminuição de 12% entre o nível F e 3MC e de 9% entre 3MC e 6MC. Não se verificaram efeitos da conservação sobre a humidade das glandes e das suas componentes (pericarpo, cotilédones), nem sobre a germinação final (%G) (Tabela 1).

**Tabela 1** - Parâmetros de qualidade dos diferentes níveis de sementes (frescas: -F, e conservadas durante 3 meses: -3MC e 6 meses: -6MC) utilizadas na produção de plantas dos diferentes tratamentos. Valores são médias  $\pm$  Erro padrão. As diferentes letras indicam diferenças significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre os níveis. %G = % final de germinação obtido em 28 dias, 20-23°C, escuro, área esterilizada

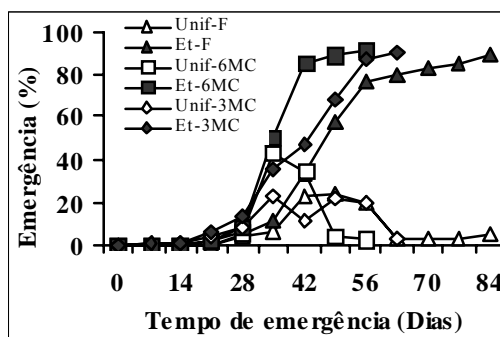
		Níveis de sementes			P
		F	3MC	6MC	
Humidade (%)	1- Glande inteira	40.1 $\pm$ 0.6 a	40.7 $\pm$ 0.4 a	41.5 $\pm$ 1.1 a	=0.434
	2- Pericarpo	38.8 $\pm$ 1.1 a	39.6 $\pm$ 0.6 a	37.5 $\pm$ 1.0 a	=0.536
	3- Cotilédones	41.2 $\pm$ 1.1 a	43.2 $\pm$ 1.2 a	44.8 $\pm$ 1.6 a	=0.230
Comportamento germinativo	4- %G	90.0 $\pm$ 2.9 a	96.3 $\pm$ 1.3 a	93.8 $\pm$ 2.4 a	=0.205
	5- TMG (dias)	14.9 $\pm$ 0.6 a	5.4 $\pm$ 0.2 b	3.8 $\pm$ 0.4 c	<0.001
	6- T <sub>75-25</sub> (dias)	5.5 $\pm$ 0.7 a	1.4 $\pm$ 0.2 b	2.1 $\pm$ 0.4 b	<0.001
Amido [mg.g <sup>-1</sup> , PS]	7- Cotilédones	648.3 $\pm$ 22.0 b	738.3 $\pm$ 22.1 a	649.3 $\pm$ 6.9 b	=0.021
	8- Embrião	355.7 $\pm$ 36.7 a	313.5 $\pm$ 7.8 a	286.3 $\pm$ 24.1 a	=0.237

### Qualidade das plantas

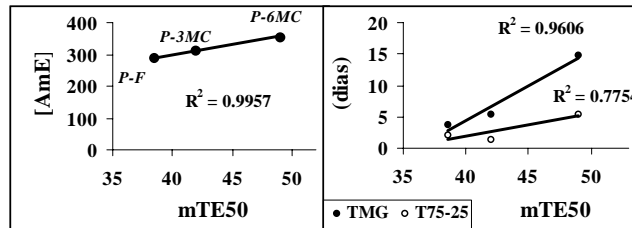
Foram considerados separadamente os parâmetros que avaliam: i)- a relação planta / glande, ii)- a morfologia e a fisiologia.

### Parâmetros da relação planta / glande

Embora a emergência total das plantas ( $E_t = 90.5 \pm 0.5\%$ ) não tenha dependido dos níveis das glândes (F, 3MC e 6MC), o tempo da emergência total ( $TE_t$ ) e o de emergência de 50% ( $TE_{50}$ ), foram drasticamente afectados por estes diferentes níveis (Figura 1). O  $TE_t$  foi de 84, 63 e 56 dias para os lotes de plantas P-F, P-3MC e P-6MC, respectivamente, e o  $TE_{50}$  das plantas dos mesmos lotes foi obtido nos períodos de [42-56], [35-49] e [35-42] dias. Uma correlação positiva foi obtida entre a média do tempo de emergência de 50% das plantas ( $mTE_{50}$ ) de cada lote com alguns parâmetros dos níveis de glândes ([AmE]:  $R^2 = 0.99$ , TMG:  $R^2 = 0.96$  e  $T_{75-25}$ :  $R^2 = 0.77$ ) (Figura 2). As plantas do lote P-3MC, apresentaram dois momentos de maior emergência ( $\approx 22\%$ ), um aos 35 dias e outro entre os 49-56 dias após a sementeira (Figura 1).



**Figura 1** - Emergência total ( $E_t$ , símbolos fechados) e uniformidade da emergência (Unif, símbolos abertos) das plantas dos diferentes lotes (1, 2 e 3) produzidos em viveiro de diferentes níveis de sementes (-F, 3MC e -6MC)

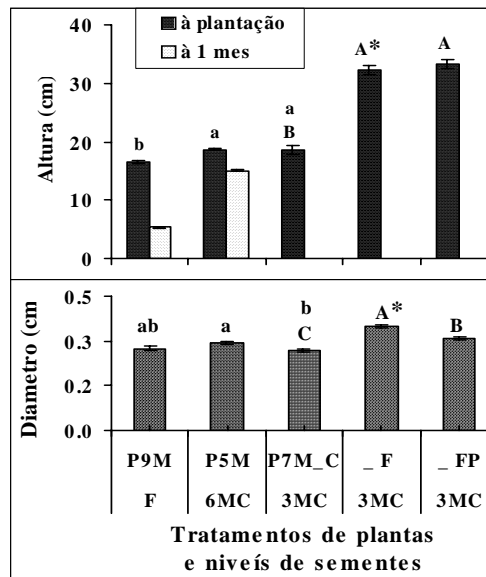


**Figura 2** - Correlação entre a média do tempo da emergência dos 50% das plantas (mTE50) e a concentração de amido do embrião [AmE] e o tempo médio da germinação (TMG) da glandes e a sua uniformidade (T<sub>75-25</sub>)

### Parâmetros morfológicos


As práticas de viveiro induziram um crescimento significativo ( $P < 0.001$ ) da parte aérea da planta (altura e diâmetro do colo) (Figura 3). A altura média (33 cm) das plantas fertilizadas (F) e micorrizadas (FP) foi o dobro dos restantes tratamentos (16.4-18.5 cm). Contudo, houve um diferente efeito no diâmetro com as plantas inoculadas a apresentar um diâmetro significativamente mais pequeno do que as fertilizadas, mas similar ao diâmetro das plantas jovens (P5M-6MC).

A altura das plantas (P7M-3MC e P5M-6MC) produzidas dos 2 níveis de glandes conservadas foi significativamente ( $P < 0.001$ ) mais elevada (média de 19 cm) do que a das produzidas de glandes frescas (P9M-F, 16.4 cm) (Figura 3). No primeiro mês de crescimento, 81% das plantas P5M-6MC atingiram esta altura contra apenas 33% das P9M-F (Figura 3).



**Figura 3** - Efeito da idade e de práticas de viveiro (Fertilização "F" e Fertilizadas e micorrizadas "FP") na altura e no diâmetro do colo dos diferentes tratamentos. Valores são médias  $\pm$  Erro padrão. As diferentes letras indicam diferenças significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre os tratamentos (minúsculas para o factor idade e maiúsculas para o factor práticas); \*: Diferenças significativas (t-test) entre P5M-6MC e P7M-3MC-F

O tratamento P5M-6MC apresentou uma melhor uniformidade que todos os outros com 71.2% das plantas dentro da classe de alturas entre 13 e 24 cm, seguido dos tratamentos não fertilizados (P7M-3M\_C, 62% e P9M-F, 60.6%). Para os tratamentos F e FP a maior uniformidade (77 e 70%, respectivamente) situou-se na classe superior (> 24cm) com uma média de altura de  $36 \pm 7.3$  cm (Figura 4).



Classes Alturas	P9M F	P5M 6MC	P7M 3MC C	P7M 3MC F	P7M 3MC FP
[< 13[	28.5	13.5	21.5	1.9	15.1
[13-24]	60.6	71.2	62.0	20.9	15.1
[> 24[	10.8	15.1	16.5	77.2	69.9
N	592	624	79	158	

**Figura 4** - Percentagem de plantas (%) dos diferentes tratamentos produzidas dos diferentes níveis de glandes por classes de altura. N: numero de plantas por tratamento

As plantas mais jovens apresentaram ainda uma razão de área foliar significativamente mais elevada do que as plantas mais velhas (Tabela 2). No entanto, o crescimento foliar do tratamento fertilizado e inoculado (P7M-3MC\_FP) foi significativamente mais elevado do que todos os outros, apresentando uma razão da área foliar (LAR) e uma fracção de massa foliar (LMF) de respectivamente,  $29.2 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$  e de  $0.27 \text{ g g}^{-1}$ , não ultrapassando os  $21 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$  e  $0.21 \text{ g g}^{-1}$ , respectivamente, para o resto dos tratamentos (Tabela 2). Quer para o factor idade quer para as práticas culturais não se observaram diferenças significativas entre a área específica das folhas (SLA) dos tratamentos.

**Tabela 2** - Efeito da idade e de práticas de viveiro (Fertilização "F" e Fertilizadas e micorrizadas "FP") nos parâmetros morfológicos dos diferentes tratamentos (T). Valores são médias  $\pm$  Erro padrão. As diferentes letras (minúsculas para o factor idade e maiúsculas para o factor práticas) indicam diferenças significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre os tratamentos; \*: Diferenças significativas (t-test) entre P5M-6MC e P7M-3MC-F

N	T	LAR	LMF	SLA
F	P9M	14.5 $\pm$ 0.08 b	0.15 $\pm$ 0.005 b	97.3 $\pm$ 2.7 a
6MC	P5M	21.6 $\pm$ 1.2 a	0.20 $\pm$ 0.01 a	101.0 $\pm$ 3.0 a
	P7M-C	16.1 $\pm$ 1.5 bB	0.16 $\pm$ 0.01 abB	100.1 $\pm$ 2.7 aA
3MC	_F	20.5 $\pm$ 1.5 B	0.21 $\pm$ 0.02 AB	103.8 $\pm$ 7.3 A
	_FP	29.2 $\pm$ 2.3 A	0.27 $\pm$ 0.02 A	108.4 $\pm$ 2.5 A

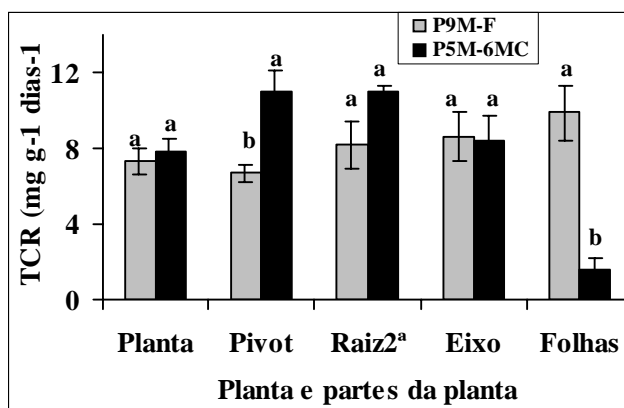
**LAR**: Razão da área foliar ( $\text{cm}^2 \text{ g}^{-1}$ ): área foliar / biomassa total da planta;  
**LMF**: fracção da massa foliar ( $\text{g g}^{-1}$ ): biomassa das folhas / biomassa total da planta;  
**SLA**: área específica da folhas ( $\text{cm}^2 \text{ g}^{-1}$ ): área foliar / biomassa folha.



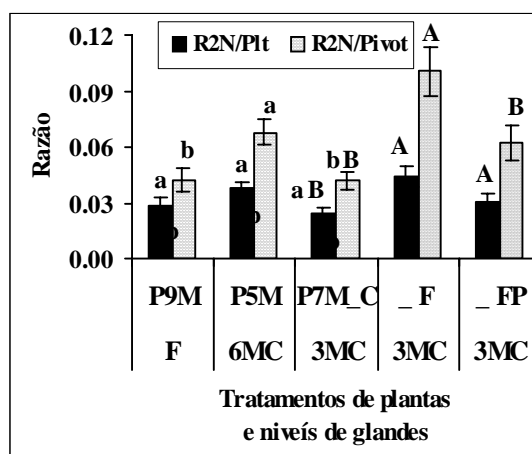
## Parâmetros fisiológicos

A Figura 5 mostra que apesar de não se terem encontrado diferenças significativas entre as taxas de crescimento relativo da planta inteira, do eixo dos 2 tratamentos (P5M-6MC e P9M-F) durante todo o período de produção (1 mês até a plantação), as plantas jovens investiram significativamente mais no crescimento do pivot ( $P = 0.020$ ) e sem diferenças significativas nas raízes secundárias. Pelo contrário as plantas mais velhas produziram significativamente mais folhas ( $P < 0.001$ ).

Verificou-se ainda em condições controladas (23 dias), não haver um efeito dos tratamentos sobre a TCR da planta e das suas componentes, contudo observou-se uma diferença significativa ( $P = 0.001$ ) quando se analisou separadamente a biomassa das novas raízes ( $R2^a N$ ) dos diferentes tratamentos. De facto, a razão de  $R2^a N$  sobre a biomassa total da planta e do pivot foi significativamente ( $P = 0.001$ ) mais alta nas plantas fertilizadas. De qualquer forma, não se encontraram diferenças da  $R2^a N$ /pivot entre as plantas fertilizadas e as mais jovens (Figura 6).



**Figura 5** - Efeito da idade na taxa de crescimento relativo (TCR) da planta e das suas componentes para o período de crescimento de 9 e 5 meses (P9M-F e P5M-6MC) à plantação. Valores são médias  $\pm$  Erro padrão. As diferentes letras indicam diferenças significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre os tratamentos



**Figura 6** - Efeito da idade e de práticas de viveiro (Fertilização "F" e Fertilizadas e micorrizadas "FP") na razão da biomassa das raízes novas sobre a biomassa total da planta ( $R2N/Plt$ ) e sobre a biomassa do pivot ( $R2N/Pivot$ ). Valores são médias  $\pm$  Erro padrão. As diferentes letras indicam diferenças significativas entre os tratamentos (minúsculas para o factor idade e maiúsculas para o factor práticas)

A tabela 3 mostra que a taxa de assimilação líquida (NAR) das plantas jovens (P5M-6MC) e das plantas fertilizadas (\_F e \_FP) foi significativamente reduzida comparativamente aos outros tratamentos (P9M-F e P7M-3MC). Por outro lado, a fracção da biomassa do eixo (SMF) aumentou significativamente nestes três tratamentos. Comparando o efeito dos 2 factores (idade e práticas) verifica-se que as plantas não fertilizadas investiram significativamente mais no desenvolvimento do sistema radicular (principalmente nas raízes secundarias) enquanto as práticas favoreceram a parte aérea. De facto, a razão entre estas duas componentes (S/R) é quase 3 vezes mais elevada nos tratamentos \_F e \_FP do que nos tratamentos (P9M-F e P7M-3MC). É de apontar também que as plantas mais jovens apresentam um S/R duas vezes superior ao das plantas mais velhas (Tabela 3).

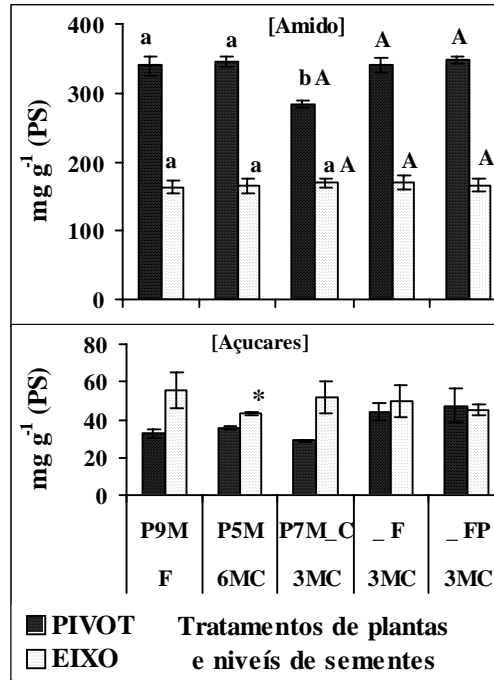
**Tabela 3** - Efeito da idade e de práticas de viveiro (Fertilização "F" e Fertilizadas e micorrizadas "FP") nos parâmetros morfológicos dos diferentes tratamentos (T). Valores são médias  $\pm$  Erro padrão. As diferentes letras indicam diferenças significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre os tratamentos (minúsculas para o factor idade e maiúsculas para o factor práticas); \*: Diferenças significativas (t-test) entre P5M-6MC e P7M-3MC-F

N	T	SMF	S/R	RMF	RMF- R2 <sup>a</sup>	RMF- Pivot	NAR
F	P9M	0.09 $\pm$ 0.004 b	0.32 $\pm$ 0.01 b	0.76 $\pm$ 0.01 a	0.10 $\pm$ 0.01 a	0.66 $\pm$ 0.01 a	0.07 $\pm$ 0.004 a
6MC	P5M	0.18 $\pm$ 0.01 a	0.62 $\pm$ 0.05 a	0.62 $\pm$ 0.02 b*	0.10 $\pm$ 0.01 a*	0.53 $\pm$ 0.01 b	0.05 $\pm$ 0.003 b
	P7M-C	0.09 $\pm$ 0.01 bB	0.35 $\pm$ 0.04 bB	0.75 $\pm$ 0.02 aA	0.09 $\pm$ 0.02 aA	0.65 $\pm$ 0.04 aA	0.06 $\pm$ 0.01 abA
3MC	_F	0.20 $\pm$ 0.02 A	0.71 $\pm$ 0.04 A	0.59 $\pm$ 0.01 A	0.09 $\pm$ 0.01 A	0.50 $\pm$ 0.01 B	0.05 $\pm$ 0.005 A
	_FP	0.17 $\pm$ 0.01 A	0.88 $\pm$ 0.2 A	0.56 $\pm$ 0.03 A	0.07 $\pm$ 0.01 A	0.49 $\pm$ 0.03 B	0.04 $\pm$ 0.002 B

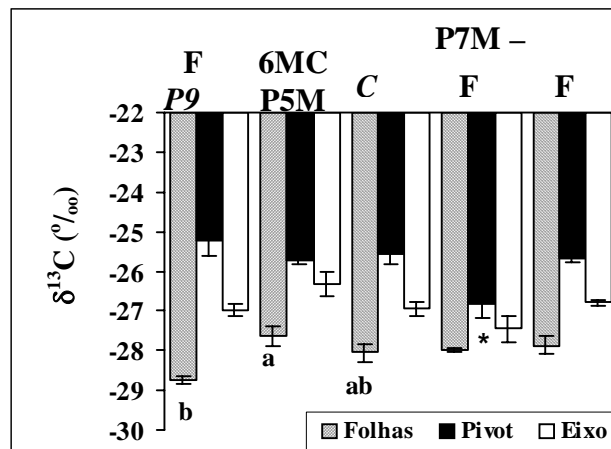
**SMF**: fracção da biomassa do eixo ( $\text{g g}^{-1}$ ): biomassa do eixo / biomassa total da planta; **NAR**: Assimilação líquida ( $\text{g g}^{-1}$ ): taxa do incremento da biomassa da planta / unidade da área foliar; **RMF** – pivot ou – R2<sup>a</sup>: fracção da biomassa do sistema radicular, – pivot ou raízes secundarias ( $\text{g g}^{-1}$ ): biomassa do sistema radicular, – pivot ou – raízes secundarias / biomassa total da planta; **S/R**: razão parte aérea / parte radicular

A concentração de amido no pivot foi idêntica para todos os tratamentos (c.a.  $343.6 \pm 2.1 \text{ mg g}^{-1}$ ) com excepção das plantas do nível 3MC não fertilizadas ( $283.9 \pm 6.3 \text{ mg g}^{-1}$ ). A concentração de amido no eixo foi significativamente mais baixa do que no pivot, mas sem diferenças entre tratamentos (Figura 7). A concentração em açúcares foi similar em todos os tratamentos e nas duas componentes da planta, excepto para as plantas jovens para as quais a concentração no eixo foi significativamente mais alta que no pivot (Figura 7).

A razão isotópica ( $\delta^{13}\text{C}$ ) das folhas (Figura 8) e a percentagem de azoto ( $\% \text{N}_2$ ) das folhas e do eixo (Tabela 4) encontram-se significativamente reduzidas nas plantas mais velhas (P9M-F) relativamente às plantas jovens provenientes de sementes conservadas (P5M-6MC e P7M-3MC). Contudo, a idade da planta não afectou a  $\delta^{13}\text{C}$  do pivot e do eixo nem a  $\% \text{N}_2$  do pivot (Tabela 4). As práticas do viveiro, por sua vez, parecem não ter influenciado a razão isotópica da planta (Figura 8). Embora, a Anova tenha mostrado haver diferenças significativas da  $\delta^{13}\text{C}$  do pivot entre os tratamentos, o teste de Tukey não permitiu distingui-los. Esta razão foi significativamente mais baixa no pivot das plantas fertilizadas do que nas mais jovens.



**Figura 7** - Concentração e repartição dos açúcares (amido e açúcares solúveis) no pivot e no eixo das plantas de diferentes tratamentos. Valores são médias  $\pm$  Erro padrão. As diferentes letras indicam diferenças significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre os tratamentos (minúsculas para o factor idade e maiúsculas para o factor práticas). \*: Diferenças significativas da repartição



**Figura 8** - Efeito da idade e de práticas de viveiro na razão isotópica  $\delta^{13}C$  das folhas, pivot e eixo dos diferentes tratamentos. Valores são médias  $\pm$  Erro padrão. As diferentes letras indicam diferenças significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre os tratamentos (minúsculas para o factor idade e maiúsculas para o factor práticas); \*: Diferenças significativas (t-test) entre P5M-6MC e P7M-3MC-F

**Tabela 4** - Efeito da idade e das práticas de viveiro (Fertilização "F" e Fertilizadas e micorrizadas "FP") nas percentagens de carbono e de azoto das folhas, pivot e eixo das plantas dos diferentes tratamentos (T). Valores são médias  $\pm$  Erro padrão. As diferentes letras indicam diferenças significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre os tratamentos

N	T	% de carbono			% de Azoto		
		Folhas	Pivot	Eixo	Folhas	Pivot	Eixo
F	P9M	47.6 $\pm$ 1.2 a	47.1 $\pm$ 0.03 a	42.0 $\pm$ 1.4 a	1.2 $\pm$ 0.1 b	0.5 $\pm$ 0.01 a	0.4 $\pm$ 0.02 b
6MC	P5M	48.7 $\pm$ 1.4 a	45.5 $\pm$ 2.4 a	47.7 $\pm$ 2.3 a	1.8 $\pm$ 0.1 a	0.9 $\pm$ 0.03 a	0.6 $\pm$ 0.04 a
	P7M-C	52.3 $\pm$ 1.6 aA	42.9 $\pm$ 0.7 aA	48.0 $\pm$ 1.8 aA	1.7 $\pm$ 0.1 abB	0.9 $\pm$ 0.1 aA	0.6 $\pm$ 0.1 aA
3MC	_F	50.8 $\pm$ 1.9 A	45.9 $\pm$ 1.9 A	45.4 $\pm$ 1.7 A	2.1 $\pm$ 0.1 A*	1.5 $\pm$ 0.2 A*	0.6 $\pm$ 0.02 A
	_FP	47.4 $\pm$ 0.4 A	40.3 $\pm$ 0.9 A	46.4 $\pm$ 1.9 A	1.8 $\pm$ 0.04 B	1.4 $\pm$ 0.1 A	0.8 $\pm$ 0.01 A

## Discussão

Desde 1997/98 ano em que se iniciou o processo de certificação de plantas em Portugal (Portaria n.º 918/98, de 21 de Outubro), certificaram-se a 77% (40 milhões) do total de 52 milhões de plantas de diferentes espécies, segundo critérios baseados em parâmetros morfológicos (e.g. altura, razão parte aérea/raízes, conformação) (RIBEIRO, 2003). Ainda segundo esta fonte, as previsões da área a arborizar com sobreiro para os 4 anos seguintes são de cerca de 1600 ha/ano. Por outro lado, verifica-se pela concertação interprofissional entre os agentes da fileira da cortiça uma crescente preocupação com a reabilitação do montado, através da melhoria das práticas de produção de plantas e de gestão (LOURO, 2003).

Na maioria dos parâmetros analisados em 5 tratamentos de plantas produzidas de diferentes níveis fisiológicos de glandes, a redução da idade da planta à plantação exerceu um efeito positivo na sua qualidade morfológica e fisiológica. O crescimento exponencial das plantas jovens produzidas do nível 6MC (6 meses de conservação) é significativamente acelerado quando comparado ao das plantas mais velhas, tradicionalmente produzidas de glandes frescas (nível F) e, com menor relevância, ao das plantas originadas de sementes conservadas durante 3 meses (nível 3MC). Em condições controladas, foi já demonstrado o efeito benéfico da conservação das glandes no estado fisiológico da planta de 60 dias de idade (MEROUANI *et al.*, 2001b). Em condições de viveiro verificou-se também uma boa correlação entre os níveis fisiológicos da glândula e alguns novos parâmetros (e.g. emergência, uniformidade, crescimento juvenil) que condicionam a futura taxa de crescimento relativo da planta (TCR), conceito que integra os parâmetros de qualidade da planta (VILLAR *et al.*, 2004). O tempo de emergência total das plantas ( $TE_t$ ) e o período para se atingir os 50% ( $TE_{50}$ ) são fortemente reduzidos nas plantas produzidas do nível 6MC quando comparados com os tempos do nível F e 3MC. A totalidade das plantas do nível 6MC emergiram 56 dias após a data de pré-germinação contra 84 dias para as do nível F. Consequentemente, obteve-se uma alta uniformidade na altura das plantas mais jovens, com cerca de 70% dentro do intervalo de 13-24 cm (ou 81% no primeiro mês de crescimento). Uma boa correlação foi obtida entre a média do tempo da emergência dos 50% das plantas ( $mTE_{50}$ ) e o TMG ( $R^2 = 0.96$ ), por um lado e a uniformidade da germinação da glândula  $T_{75-25}$  ( $R^2 = 0.77$ ) por outro. Sabe-se que ocorrem alterações fisiológicas e bioquímicas durante a conservação das glandes. O grau de dormência cotilédonaria das glandes frescas (nível F) (MEROUANI, 1996; MEROUANI *et al.*, 2001a) desaparece completamente aos 3-4 meses de conservação em frio húmido (MEROUANI *et al.*, 2001a), para surgir depois novamente uma dormência secundária aos 12-13 meses (MEROUANI *et al.*, 2004). A dormência do epicótilo foi também encontrada nas plantas de sobreiro (MEROUANI *et al.*, 2001b).

Se vários trabalhos experimentais concluíram que as reservas e o tamanho das sementes afectam o crescimento da planta (ANDERSSON e FROST, 1996; MEROUANI *et al.*, 2001b; KENNEDY *et al.*, 2004), os presentes resultados demonstram que esta relação deve se à concentração de amido do eixo embrionário ( $R^2 = 0.99$ ) e não à dos cotilédones, representando o principal local de reservas. Apesar de a concentração de amido nos cotilédones das glandes do nível 3MC (TMG intermédio) representar 75% das reservas totais contra 65% para os níveis F e 6MC, o potencial de crescimento das plantas foi apenas intermédio. Também, a análise das reservas da planta (amido, açúcares) parece não depender da idade da planta, com excepção para as plantas do nível 3MC que mostraram uma redução da concentração de amido no pivot. Estes resultados sugerem que o crescimento juvenil das plantas depende não tanto da quantidade das reservas, mas provavelmente também da forma como são integrados os diferentes componentes (e.g. amido, proteínas, lípidos) em cada nível fisiológico da semente e, sobretudo, das condições do momento da produção (temperatura e humidade). A razão isotópica ( $\delta^{13}\text{C}$ ) das folhas das plantas mais velhas (P9M-F) foi significativamente mais baixa ( $-28.7 \pm 0.1$ ) relativamente à das plantas mais jovens ( $-27.9 \pm 0.1$ ). As médias da  $\delta^{13}\text{C}$  do pivot ( $-25.8 \pm 0.3$ ) e do eixo ( $-26.9 \pm 0.2$ ) de todos tratamentos são similares aos obtidos por Kennedy *et al.* (2004) que demonstrou haver uma tendência das folhas para deixar de usar as reservas cotilédonares, 4 dias após a iniciação da actividade fotossintética.

As plantas com uma TCR elevada têm maior probabilidade de sobrevivência, estabelecendo rapidamente um sistema radicular profundo e ramificado, explorando um maior volume de solo que lhe permite uma nutrição mineral adequada e manter o seu potencial hídrico alto durante os períodos de secura (LEIVA and FERNÁNDEZ-ALÉS, 1998; VILLAR-SALVADOR *et al.*, 2004). O maior crescimento, observado no primeiro mês, nas plantas jovens (P5M-6MC) relativamente às plantas mais velhas (P9M-F), atenuou as diferenças da TCR destes 2 tratamentos. Este facto resultou do período do ano em que este ocorreu e da supressão da dormência deste nível de semente (6MC). Contudo, observou-se um investimento significativamente maior no pivot das plantas jovens e uma tendência semelhante nas suas raízes secundárias. De facto, a razão biomassa das raízes secundárias relativamente ao pivot das plantas jovens, em condições controladas, foi significativamente mais alto reflectindo o seu maior crescimento. Perante estes resultados é de prever uma maior sobrevivência das plantas jovens, facto aliás observado num trabalho semelhante (Giga, xx).

Comparando o comportamento das plantas jovens do nível 6MC com as que foram fertilizadas do nível 3MC, verifica-se que só em alguns parâmetros (altura, diâmetro, R2N/Plt, NAR e %N do pivot) houve diferenças significativas em favor das fertilizadas. Todos os outros parâmetros estudados foram semelhantes. Contudo, as plantas mais jovens têm tendência a aumentar a fracção do sistema radicular (RMF) do que as plantas fertilizadas, especialmente em raízes secundárias (RMF R2<sup>a</sup>). Adicionalmente, a  $\delta^{13}\text{C}$  do pivot das plantas fertilizadas é significativamente mais baixo e a percentagem de azoto do pivot e do eixo significativamente mais altos do que nas plantas jovens. Isto significará, provavelmente, que as plantas fertilizadas preferem os nutrientes da solução nutritiva e deixaram de usar as reservas dos cotilédones. Sabe-se que a fertilização melhora significativamente o crescimento das plantas de diferentes espécies (WELANDER e OTTOSSON; 2000, FAN *et al.*, 2004, VILLAR-SALVADOR *et al.*, 2004). Porém, uma forte fertilização pode prejudicar o sucesso da plantação induzindo uma redução da biomassa radicular e da tolerância à secura (TAN and HOGAN, 1995), e induzindo um aumento da área foliar, do tamanho do eixo e do S/R (PARDOS e MONTERO, 2000). Ao contrário, VILLAR-SALVADOR *et al.* (2004) mostrou que uma forte fertilização (145mg N, 16mg P e

34mg K/planta) em plantas de azinheira (*Q. ilex* L.) em viveiro pode melhorar o crescimento e a sobrevivência durante os dois primeiros anos após a instalação

**Agradecimentos:** Estamos gratos ao Prof. Henrique Ribeiro pela disponibilidade e orientação na fertilização no viveiro. Expressamos os nossos agradecimentos ao Dr. Daniel Moussain, Guy Ruize Catherine Pernault (INRA, França) pela implementação da técnica de micorrização. Este trabalho insere-se nas actividades dos Projectos **CREOAK-QLK5-CT-2002-01594 e POCTI/41359/AGG/2001.**

## Referências

- ANDERSSON, C.; FROST, I., 1996. Growth of *Quercus robur* seedlings after experimental grazing and cotyledons removal. *Acta Bot. Neerland.* **45** : 85-94.
- BASTIEN, Y., 1992. Résultats de semis de glands de conservation en pépinière. *Rev. For. Fr.* XLIV, 5 : 430-433.
- BRONCANO, M.J.; RIBA, M.; RETANA, J., 1998. Seed germination and seedling performance of two Mediterranean tree species, holm oak (*Quercus ilex* L.) and Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.): a multifactor experimental approach. *Plant Ecol.* **138** : 17-26
- CARVALHO, J.B.; MORAIS, C.J.E., Análise da florestação em Portugal 1966-1995,- 1996-Reunião de Especialistas em Reabilitação de Ecossistemas Florestais Degradados. Instituto Florestal. Lisboa, Portugal.
- COLPAERT, J.V.; VAN LAERE A.; VAN ASSCHE, J.A., 1996. Carbon and nitrogen allocation in ectomycorrhizal and non-mycorrhizal *Pinus sylvestris* L. seedlings. *Tree Physiol.* **16** : 787-793
- FAN, Z.; MOORE J.M.; WENNY, D., 2004. Growth and nutrition of container-grown ponderosa pine seedlings with controlled-release fertilizer incorporated in the root plug. *Ann. For.Sci.* **61** : 117-124.
- FUCHS, M.A.; KRANNITZ, P.G.; HARESTAD, A.S., 2000: Factors affecting emergence and first-year survival of seedlings of Garry oaks (*Quercus garryana*) in British Columbia, *Can. For. Ecol. Manage.* **137** : 209-219.
- Giga, xx).
- GONZÁLEZ-OCHOA, A.I.; de las HERAS, J.; TORRE P.; SÁNCHEZ-GÓMEZ, E., 2003. Mycorrhization of *Pinus halepensis* Mill. and *Pinus pinaster* Aiton seedlings in two commercial nurseries. *Ann.For,Sci.* 60 : 43-48.
- HALHOUL, M.N.; KLEINBERG I., 1972. Differential determination of glucose and fructose and glucose-and fructose-yielding substances with anthrone. *Annals of biochemistry.* **50** : 337-343.
- <http://aob.oupjournals.org/content/vol90/issue4/images/data/485/DC1/Mcf214suppl.xls>.
- HUNT, R.; CAUSTON, D.R.; SHIPLEY, B.; ASKEW, A.P., 2002. A modern tool for classical growth analysis. *Annals of botany* **90** : 485-488.

- ISTA, International Rules for Seed Testing, 2003: *Biochemichal test for viability. The topographical tetrazolium test. Annexe to Chapter 6: Tetrazolium Test 6A-1.*
- KENNEDY, P.G.; HAUSMANN, N.J.; WENK E.H.; E DAWSON T.E., 2004. The importance of seed reserves for seedling performance: an integrated approach using morphological, physiological, and stable isotope techniques. *Oecologia*. **141** : 547-554.
- KIRIINYA, C.K., 2001. Effects of seedlings duration in the nursery on the growth of trees in the field. Nersery production and stand establishment of broad-leaves to promote sustainable forest management. Palazzo Rospigliosi, Rome-7<sup>th</sup>-10<sup>th</sup> May 2001. (Resumo).
- LEIVA, M.J.; FERNÁNDEZ-ALÉS, R., 1998. Variability in seedling water status during drought within a *Quercus ilex* subsp. *Bollota* population, and its relation to seedling morphology. *For. Ecol. Manag.* **111** : 147-156.
- LOURO, G., 1999: *Avaliação da aplicação de programas de apoio à floresta na região do Algarve*, Direcção Geral das Florestas (DGF-Lisboa), Portugal, 29p.
- LOURO, G., 2003. *Informação técnica* nº 4, Janeiro/Março, DVPF, DGRF
- MARIANITO, E.M.G., 2001. *Efeito na qualidade das plantas da conservação de sementes de sobreiro no frio*. Rel. Trab. Final. Curso Eng. Florestal. ISA
- MCKAY, H.M.; JINKS, R.L.; McEVOY, C., 1999. The effect of desiccation and rough-handling on the survival and early growth of ash, beech, birch and oak seedling, *Ann. For. Sci.* **56** : 391-402.
- MEROUANI, H.; J. MINAS; ALMEIDA, M.H.; PEREIRA, J.S., 2001a'. A conservação da semente: uma solução para promover o montado. *4ª Congresso Florestal "A Floresta na Sociedade do Futuro"*, Évora (Portugal), 28-30 de Novembro de 2001
- MEROUANI, H.; BRANCO, C.; ALMEIDA, M.H.; PEREIRA, J.S., 2001a. Comportement physiologique des glands de chêne liège (*Quercus suber* L.) durant leur conservation et variabilité inter-individus producteurs, *Ann. For. Sci.* **58** :143-153.
- MEROUANI, H.; BRANCO, C.; ALMEIDA, M.H.; PEREIRA, J.S., 2001b. Effects of acorn storage duration and parental tree on emergence and physiological status of Cork oak (*Quercus suber* L.), *Ann. For. Sci.* **58** : 543-554.
- MEROUANI, H.; TRUBAT, R.; LOURENÇO, M.J.; SAMPAIO, T.; SANTOS, ML.; CORTINA, J.; PEREIRA, J.S.; ALMEIDA, M.H., 2004. Le développement de champignons, un facteur limitant la conservation à long terme des glands de chêne-liège (*Quercus suber* L.). *4º Meeting IOLB, Hammamet, Tunisia 5-9 Octobre 2004*. Boletim de IOLB, (in press)
- MEROUANI, H.; BRANCO, M.; ALMEIDA, M.H.; PEREIRA, J.S., 2001c. A conservação a longo prazo de sementes de sobreiro. *Manual prático. Ed.G Priod, I. Monteleone and P. Belletti.*, 23 p. .

- MEROUANI, H.; M.H., ALMEIDA; J.S., PEREIRA, 2004. Effects of precondition drying on the success of long-term storage of oak cork (*Quercus suber* L.) acorns. *Ann. For. Sci.* (submetido 2004).
- NARDINI, A.; SALLEO, S.; TYREE, M.T.; VERTOVEC, M., 2000. Influence of the ectomycorrhizas formed by *Tuber melanosporum* Vitt. On hydraulic conductance and water relations of *Quercus ilex* L. seedlings. *Ann. For. Sci.* **57** : 305-312.
- O'REILLY, C.; MCCARTHY, N.; KEANE, M.; HARPER, C.P.; GARDINER, J.J., 1999. The physiological status of Douglas fir seedlings and the field performance of freshly lifted and cold stored stock, *Ann. For. Sci.* **56** : 391-402
- PARDOS, M.; MONTERO, G., 2000. Seedling quality. Specila reference to cork oak. Mediterranean Silviculture with emphasis in *Quercus suber*, *Pinus pinea* and *Eucalyptus* sp. IUFRO meeting, Seville. (May 2000)., 5-25
- REY-BENAYAS, J.M., 1998. Growth and mortality in *Quercus ilex* L. seedlings after irrigation and artificial shading in Mediterranean set-aside agricultural lands. *Ann. Sci. For.* **55** : 801-807.
- RIBEIRO, D., 2003. *Informação técnica* nº 4, Janeiro/Março, DVPF, DGRF.
- RITCHIE, G.A., 1984. Assessing seedling quality, in: Dureyea ML., Landis TD, Eds. Forest Nursey Manual: Production of bareroot seedlings, Martinus Nijhoff/Dr.W.Junk Publishers, The Hague/Boston/Lancaster, 243-259.
- SILVA, C.; RIBEIRO, D., 2003. *Informação técnica* nº 4, Janeiro/Março, DVPF, DGRF
- TAN, W.; HOGAN, G.D., 1995. Effects of nitrogen limitation on water relations of jack pine (*Pinus banksiana* Lamb.) seedlings. *Plant Cell. Environ.* **18** : 757-764.
- TEIXEIRA, A., 2003. *Informação técnica* nº 4, Janeiro/Março, DVPF, DGRF
- TINUS, R.W., 1996: Root growth potential as an indicator of drought stress history, *Tree Physiol.* **16** : 795-799.
- VILLAR, R.; RUIZ-ROBLETO, J.; QUERO, J.L.; POORTER, H.; VALLADORES, F.; MARAÑÓN, T., 2004. *Tasas de crecimiento en espécies leñosasa: aspectos funcionales e implicaciones ecológicas. Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante.* Ministério de Médio Ambiente, EGRAF, SA, Madrid, 191-227.
- VILLAR-SALVADOR, P.; R., PLANELLES; ENRÍQUEZ, E.; PEÑUELAS RUBIRA, J., 2004. Nursery cultivation regimes, plant functional attributes, and field performance relationships in the Mediterranean oak *Quercus ilex* L. *For. Ecol. Manage.*, **196** : 257-266
- WELANDER, N.T.; OTTOSSON, B., 2000. The influence of low light, drought and fertilization on transpiration and growth in young seedlings of *Quercus robur* L. *For. Ecol. Manage.* **127** : 139-151.